

(10) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2002-517219

(P2002-517219A)

(43) 公表日 平成14年6月18日 (2002.6.18)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
C 1 2 N 15/09		C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 M 1/00		C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 N 15/00	A

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 34 頁) 最終頁に就く

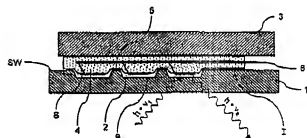
(21) 出願番号 特願2000-553211(P2000-553211)
 (86) (22) 出願日 平成11年5月29日(1999.5.29)
 (85) 翻訳文提出日 平成12年12月12日(2000.12.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/DE 99/01589
 (87) 国際公開番号 WO 99/64157
 (87) 国際公開日 平成11年12月16日(1999.12.16)
 (31) 優先権主張番号 198 26 153.5
 (32) 優先日 平成10年6月12日(1998.6.12)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), CA, JP, US

(71) 出願人 ノヴェンバー・アクティエンゲゼルシャフト・ゲゼルシャフト・フューア・モレクラール・メディツィン
 ドイツ・D-91056・エアランゲン・ウルリッヒ・シャルクー・シュトラッセ・3
 (72) 発明者 ヴォルフ・ベルトリング
 ドイツ・D-91056・エアランゲン・マイゼンブエーク・22
 (74) 代理人 弁理士 志賀 正武 (外7名)

(54) 【発明の名称】 ヌクレオチド配列を検出するための試料を調製する方法及び装置

(57) 【要約】

試料を分析溶液と接触し、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)によりヌクレオチド配列を検出するための試料調製方法であって、a) 分析溶液を、支持体(1)上に提供された少なくとも一の腔(2)に充填し、b) 当該腔(2)の形状に相補的なフタ(3)を、当該支持体(1)上に、当該分析溶液の少なくとも一部が当該腔(2)と当該フタ(3)との間に形成されるギャップ(6)によってかわるよう配置し、c) 当該ギャップ(6)を、当該腔(2)の開口部近傍に供給された少なくとも一のシール(5、12)で閉じることとを特徴とする方法。



(2)

特表2002-517219

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料を分析溶液と接触させ、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)によりヌクレオチド配列を検出するための試料調製方法であって、当該

a)分析溶液を、支持体(1)上に提供された少なくとも一の腔(2)に充填し、

b)当該腔(2)の形状に相補的なフタ(3)を、当該支持体(1)上に、当該分析溶液の少なくとも一部が当該腔(2)と当該フタ(3)との間に形成されるギャップ(G)に与ってかわるようにして配置し、

c)当該ギャップ(G)を、当該腔(2)の開口部近傍に供給された少なくとも一のシール(5、12)で閉じる

ことを特徴とする方法。

【請求項2】 前記の分析溶液に第一のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記の分析溶液に、第二のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】 前記の腔(2)へと伸びた前記のフタ(3)の内面(I)に、第三のプライマーが、好ましくはその5'末端で結合することを特徴とする請求項1乃至3の何れか一項に記載の方法。

【請求項5】 試料中に存在するかもしれない前記のヌクレオチド配列が、第三のプライマーに結合することを特徴とする請求項4に記載の方法。

【請求項6】 増幅サイクルの完了後に、増幅された核酸が、前記の第三のプライマーに結合して前記の内面(I)に蓄積することを特徴とする請求項4又は5に記載の方法。

【請求項7】 蓄積が、電場を適用することによりなされることを特徴とする請求項6に記載の方法。

【請求項8】 前記の分析溶液及び／又はプライマーのうちの一つが、その蛍光性について検査されることを特徴とする請求項1乃至7の何れか一項に記載の方法。

【請求項9】 検出する前記のヌクレオチド配列が、前記のプライマーのうちの一つに結合すると、分析溶液中にある物質の蛍光性が変化することを特徴と

(3)

特表2002-517219

する請求項1乃至8の何れか一項に記載の方法。

【請求項10】 検出する前記のヌクレオチド配列が前記のプライマーのうちの一つに結合すると、蛍光反応が生じ、変化し、又は消滅するようにして二つの蛍光性基間の空間的關係が変化することを特徴とする請求項1乃至9の何れか一項に記載の方法。

【請求項11】 前記の分析溶液が、周期的に加熱及び冷却されることを特徴とする請求項1乃至10の何れか一項に記載の方法。

【請求項12】 好ましくは赤外線である光、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を前記の腔(2)に通すことにより、加熱を行うことを特徴とする請求項11に記載の方法。

【請求項13】 ガス若しくは流体を前記の腔の周りに通すか、又はペルチェ素子により冷却を行うことを特徴とする請求項11又は12に記載の方法。

【請求項14】 ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)により、試料中に存在するかもしれないヌクレオチド配列を検出するための装置であって、少なくとも一の腔(2)を有する支持体(1)、当該腔(2)に相補的であり、そして当該腔(2)によって取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔(2)及び当該フタ(3)の間のギャップ(2)に取って代わるようにして当該支持体(1)上に配置できるフタ(3)、当該腔(2)の開口部の近傍に配置され、当該ギャップ(2)を密封するためのシール(5、12)を有し、

当該腔は、当該開口部の方向へ円すい様に広がる、囲いの側壁(LW)を有し、当該ギャップ(2)は、1 mm以下の幅(W)を有することを特徴とする装置。

【請求項15】 前記の分析溶液を周期的に加熱及び冷却する機能が提供されていることを特徴とする請求項14に記載の装置。

【請求項16】 分析溶液及び／又はプライマーのうちの一つの蛍光性を試験する機能が提供されることを特徴とする請求項14又は15に記載の装置。

【請求項17】 前記の支持体が、半透明の物質、好ましくはガラス又はプラスチックからなることを特徴とする請求項14乃至16の何れか一項に記載の装置。

【請求項18】 前記の腔が、平面部、好ましくは平底(B)を有するように

(4)

特表2002-517219

設計されていることを特徴とする請求項14乃至17の何れか一項に記載の装置。

【請求項19】 別のシール(12)が、前記の支持体(1)上、及び／又は前記の腔(2)の間に配置される部分にある前記フタ(3)の内面(1)上、又は前記フタ(3)の内面(1)上に提供された突出部(4)上にあることを特徴とする請求項14乃至18の何れか一項に記載の装置。

【請求項20】 前記の支持体が、96個の腔(2)を有し、及び前記のフタ(3)が、当該腔(2)の形状と相補的な、96個の突出部(4)を有することを特徴とする請求項14乃至19の何れか一項に記載の装置。

【請求項21】 前記のフタ(3)が電導性の物質、好ましくはプラスチックからなることを特徴とする請求項14乃至20の何れか一項に記載の装置。

【請求項22】 前記のプラスチックが、ポリカーボネート、トリメチルチオフェン、トリアミノベンゼン、及び／又はポリカルベンを含み、そして、前記のフタ(3)の内面(1)の少なくとも一部が、生体分子に結合する物質で提供されていることを特徴とする請求項21に記載の装置。

【請求項23】 前記の支持体(1)が、電極、好ましくは白金電極を有し、電場をかけて、それにより分析溶液中に存在するヌクレオチド配列が、前記の内面(1)にシフトし、そして場反転サイクルにより蓄積することが可能であることを特徴とする請求項14乃至22の何れか一項に記載の装置。

【請求項24】 前記の分析溶液に第一のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項14乃至23の何れか一項に記載の装置。

【請求項25】 前記の分析溶液に第二のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項14乃至24の何れか一項に記載の装置。

【請求項26】 前記の腔(2)を向いた前記のフタ(3)の内面(1)に、第三のプライマーが、好ましくはその5'末端で結合することを特徴とする請求項14乃至25の何れか一項に記載の装置。

【請求項27】 底面(B)及び前記のフタ(3)の内面(1)の間に、蛍光を励起する手段が提供されていることを特徴とする請求項14乃至26の何れか一項に記載の装置。

(5)

特表2002-517219

【請求項28】 前記の励起手段に起因する輻射が、前記のフタ(3)の内面(1)に対してフォーカスすることが可能であることを特徴とする請求項27に記載の装置。

【請求項29】 蛍光を励起するための前記の手段(7)が、レーザーダイオードにより作られていることを特徴とする請求項27又は28に記載の装置。

【請求項30】 蛍光を検出する機能部(8)が提供されていることを特徴とする請求項14乃至29の何れか一項に記載の装置。

【請求項31】 観察される蛍光を評価する機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至30の何れか一項に記載の装置。

【請求項32】 前記の支持体(1)を、蛍光を励起する手段(7)、及び／又は検出機能部(8)に対してシフトするための機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至29の何れか一項に記載の装置。

【請求項33】 それぞれの底面(B)及び対応するフタ(3)の内面(1)の間の蛍光をそれぞれ別個に励起及び／又は検出するための網眼様手段が提供されていることを特徴とする請求項14乃至32の何れか一項に記載の装置。

【請求項34】 前記のフタ(3)の少なくとも一部、及び／又は前記支持体(1)が、これらに輻射された熱が効率良く吸収されるように黒色であることを特徴とする請求項14乃至33の何れか一項に記載の装置。

【請求項35】 周期的に前記の分析溶液を加熱及び冷却するための機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至34の何れか一項に記載の装置。

【請求項36】 好ましくは赤外線である光を作り出すための手段(9)、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を前記の腔(2)の周りに通すための手段が、加熱用に提供されていることを特徴とする請求項35に記載の装置。

【請求項37】 好ましくはガス又は流体を前記の腔(2)の周りに通して、又はペルチェ素子により冷却するための手段(10)が、提供されていることを特徴とする請求項35又は36に記載の装置。

【請求項38】 前記の支持体(1)が、ガラス製の底面(B)を有することを特徴とする請求項14乃至37の何れか一項に記載の装置。

(6)

特表2002-517219

【請求項39】 前記のシール(5)が、側壁(LW)を囲む凹部14と、当該凹部(14)を補い、且つ当該凹部(14)内にしっかりとはまりこむようにして、前記の突出部4に提供された周囲の補強材(13)とにより形成されることを特徴とする請求項14乃至37の何れか一項に記載の装置。

【請求項40】 前記の腔(2)内の圧力が上昇したとき、前記のシール(5)が、補強材(13)を前記凹部(14)に対して圧することにより自己密封することを特徴とする請求項40に記載の装置。

【請求項41】 a)少なくとも一の腔(2)を有する支持体(1)、及び
b)当該腔(2)に相補的なフタ(3)であって、当該腔(2)に取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔(2)及び当該フタ(3)の間に形成されるギャップ(G)内にと
ってかわるようにして支持体(1)へ配置することができることを特徴とするもの、
c)少なくとも一の第一のプライマーを含む分析溶液
を有する、請求項1に記載の方法を実施するためのキット。

【請求項42】 分析溶液中に第二のプライマーが存在することを特徴とする請求項41に記載のキット。

【請求項43】 第三のプライマーが、前記腔(2)に向いた前記のフタ(3)の内面(1)に、好ましくはその5'末端で結合することを特徴とする請求項41又は42に記載のキット。

(7)

特表2002-517219

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)の手段により、ヌクレオチド配列を検出するための試料調製方法に関する。本発明は更に、請求項14のプリアンプル部分の装置に関する。

【0002】**【従来技術】**

US5,455,175は、複数の液体の生物学的試料を、予め設定した温度プロフィールに反復してかけ、PCRを行うためのいわゆる熱サイクラーが開示されている。温度処理の時間を短縮するため、少量の生物学的試料を、薄壁のガラス製毛細管内にとる。このように、個々の試料は、毛細管内へ充填しなくてはならず、そして内部に封入しなくてはならない。これは時間を浪費するものである。

【0003】

DE336738A1は、請求項14のプリアンプル部分の滴定プレートを開示している。既知の滴定プレートのフタは、かなりの力をかけないとその支持体から取り去ることはできない。既知の装置に取られた試料は、外部から加熱するのが困難であり、この装置はPCRを実行するのには適さない。

【0004】**【発明が解決しようとする課題】**

本発明の目的は、従来技術の不利益を克服することである。具体的には本発明は、PCR用の試料を調製するのに必要とする時間を減少させることを意図した方法及び装置を供給することである。本発明の別の目的は、単純化そして改良された、具体的にはリアルタイムの検出及び感度の増大である。

【0005】**【課題を解決するための手段】**

この目的は、特色請求項1及び14の特徴により達成される。実施態様は、請求項2乃至13、及び15乃至43の特徴に見いだすことができる。

【0006】

(8)

特表2002-517219

【発明の実施の形態】

本発明によれば、ポリメラーゼ連鎖反応の手段により、ヌクレオチド配列を検出するための試料を調製する方法が提供されるが、この方法においては、

- a) 分析溶液を、支持体上に提供された少なくとも一の腔に充填し、
- b) 当該腔の形状に相補的なフタを、当該支持体上に、当該分析溶液の少なくとも一部が当該腔と当該フタとの間に形成されるギャップによってかわるようにして配置し、
- c) 当該ギャップを、当該腔の開口部近傍に供給された少なくとも一のシールで閉じている。

【0007】

提案する方法は、試料の調製時間をかなり短縮する。試料溶液を毛細管内へ密封する方法は、不要である。

【0008】

分析溶液には、第一及び／又は第二のプライマーを添加しておくことができる。第三のプライマー、好ましくはその5'末端で腔へと伸展したフタの内面へ結合するものを有することが特に有益である。このようにして、第三のプライマーに、試料中に存在するかもしれないヌクレオチド配列を結合させることが可能である。これは具体的には、フタの内面を試料へ浸す単純な方法で達成することができる。増幅サイクルが完了した後、増幅された核酸が、前記の第三のプライマーに結合して前記の内面(I)に蓄積することも可能である。この蓄積は、好適には、電場を適用することにより行われる。ヌクレオチド配列は、電場の影響下で、第三のプライマーへとシフトされる。

【0009】

興味あるヌクレオチド配列の存在を検出するには、分析溶液、及び／又はプライマーの一つをその蛍光性について試験することが好適である。検出するヌクレオチド配列が、プライマーの一つに結合すると、分析溶液中に存在する物質の蛍光性の変化が起こる。検出するヌクレオチド配列がプライマーの一つに結合すると、二つの蛍光性基間の空間的關係は、好ましくは蛍光反応が生じ、変化し、又は消滅するようにして変化する。

(9)

特表2002-517219

【0010】

別の態様においては、分析溶液は周期的に加熱及び冷却される。典型的な温度サイクルは、まず、分析溶液を90乃至92°Cに加熱し、50乃至55°Cに冷却し、そして再び72乃至75°Cに加熱する。最初の加熱中には、変性が生じ、そして第二の加熱中には、ヌクレオチド配列の合成が生じる。上述のサイクルを約30回反復する。

【0011】

加熱は、好ましくは赤外線である光、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を腔の周囲に通すことにより実施することができる。急速な冷却は、好適にはガス、例えば空気を通すか、又は流体を腔の周囲に通すか、又はペルチェ素子の手段により実施することができる。

【0012】

本発明によれば更に、試料中に存在するかもしれないヌクレオチド配列をポリメラーゼ連鎖反応の手段により検出するための装置が提供されるが、この装置では、腔には取り囲む側壁があり、これは開口部へと円すい状に広がり、ギャップは1mm以下の幅を有している。

【0013】

提案する装置は、試料の調製時間の短縮を可能にする。これを使用すると、PCRを行うのに必要となる時間がかなり減少させることが可能になる。フタは、PCR後にあまり力をかけないで持ち上げられる。

【0014】

分析溶液を周期的に加熱及び冷却する機能部を提供することは有益である。更に、更に、分析溶液及び／又はプライマーのうちの一つの蛍光性を検査するための機能部を提供してもよいであろう。

【0015】

支持体は、半透明の材料で作ることができ、好ましくはガラス又はプラスチックである。腔は、好適には平面部分を有するようにして設計され、好ましくは平底を有する。支持体上、及び／又はフタの内面上には、別のシールを腔の間に位置する部分、又はフタの内面に配置された突出部上に提供することもできる。前

(10)

特表2002-517219

記のシールと同様に、この別のシールは、例えばゴム、シリコン、テフロンや、他の適当な材料から作ることができる。

【0016】

支持体は、96個の腔を有し、フタが96個の突出部であって腔の形状に相補的なものを有することが特に有益であると考えられる。したがって、例えば支持体が通常の96穴のプレートとほぼ同じ大きさを有することが可能である。したがって、支持体には、断片 (fraction) 又は上述した数の腔を有することもできる。

【0017】

別の態様においては、フタは導電性の物質から作ることができ、好ましくはプラスチックである。支持体は、電極、好ましくは白金電極を呈していてもよく、これにより電場をフタと支持体との間に適用することができるようにし、これによって、分析試料中に存在するヌクレオチド配列を、内面にシフトし、場反転サイクルにより蓄積することが可能である。

【0018】

プラスチックは、ポリカーボネート、トリメチルチオフェン、トリアミノベンゼン、及び／又はポリカルベンを含むことができ、そしてフタの内面の少なくとも一部は、生体分子に結合する物質で提供することができる。このヌクレオチド配列の、プラスチックへの結合は、本願ではストレプトアビジン、又はアビジンで介在することができる。

【0019】

分析溶液には、有益には第一の及び／又は第二のプライマーが添加されている。第三のプライマーが、腔に向いたフタの内面に、好ましくは5'末端で結合することは特に有益であると考えられる。これにより増幅したヌクレオチド配列を分析溶液から除去することが可能になる。

【0020】

別に態様によれば、底面とフタの内面との間のを励起する手段が提供される。励起手段から生じる輻射を、このフタの内面へ向かわせて焦点をあわせることが可能である。これは特にヌクレオチド配列が第三のプライマーを介して内面に結合する場合には有益である。蛍光を励起する手段は好適には、レーザダイオード

(11)

特表2002-517219

で作られている。したがって、この場合はレーザー光の形態をとる。支持体底面の励起はまた、いわゆるガリ---モード (gally-mode) のレーザー (Science1998、280、p1501、1544ff.)により、予め設定した方法で、同時に又は連続して行うことができる。

【0021】

蛍光を検出するための機能部、観察された蛍光を評価する機能部、及び支持体を、蛍光励起手段及び／又は検出機能部に対してシフトする機能部を更に提供することができる。更には、底面と、対応するフタの内面との間の蛍光をそれぞれ別個に励起及び／又は検出するための網眼様 (facet-eye-like) 手段も提供することができる。これにより更に分析時間が短縮される。

【0022】

好適には、フタの少なくとも一部、及び／又は支持体は、輻射された熱が効率的方法で吸収されるように黒色である。具体的には、これらは高度に熱伝導性の材料からなる。

【0023】

分析溶液を周期的に加熱及び冷却するための機能部を更に提供することができるが、これは有益には、加熱用には好ましくは赤外線である光を生成する手段、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を腔の周辺に通すための手段を提供するのに有益である。更に好適には、冷却手段であって好ましくはガス又は流体を腔の周囲に通すこと、又はベルチェ素子により達成されるものが提供される。

【0024】

良好な透明性を同時に持ちながら熱伝導性を改善するために、支持体は、ガラス製の底面を有することができる。シールは、好適には側壁を囲む凹部により形成されるが、これは好ましくはプラスチックであり、そして周囲の補強材は、当該凹部を補い、当該凹部内へしっかりとこむようにして突出部に提供される。シールは好適には、腔内の圧力が上昇したとき、例えば温度上昇したときに、当該補強材を当該凹部へ押すことにより自己密封する。

【0025】

最後に、a)少なくとも一の腔を有する支持体、及び

(12)

特表2002-517219

b)当該腔に相補的なフタであって、当該腔に取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔及び当該フタの間に形成されるギャップ内にとりかわるようにして支持体へ配置することができることを特徴とするもの、

c)少なくとも一の第一のプライマーを含む分析溶液を有する、本発明の方法を実施するためのキットが権利請求されている。

【0026】

分析溶液は、第二のプライマーを含むことができる。第三のプライマーは、腔に向いたフタの内面に、好ましくはその5'末端で結合することができる。

【0027】

本発明の使用例は、より詳細には以下の図面を参照することにより例示する。

【0028】

図1においては、支持体1には複数の腔2がある。フタ3が、その内面上において複数の突出部4とともに提供されている。突出部4は、腔2に相補的な形状を有している。腔2の底面Bと、これに平行する反対側の突出部4との間にはギャップGが形成される。腔2は更に、底面Bから円すい状に開いている周囲の側壁LWで区切られている。突出部4及び腔2との間に形成されるギャップGは、1mm以下の幅がある。シール5が、腔2の近傍に提供される。符号6は、フタフタ3に組み込まれるようにモールドされた電極を意味する。支持体1は、対電極を有することができる。(図示せず)。

【0029】

図2は、励起及び検出時の、図1の装置を示す。符号7は、ギャップGによって取られた分析溶液を励起するための光学的機能部を概略的に示す。これは、網眼様手段の形態をとり、これによって複数又は全ての腔2が、同時に、例えばレーザ光を受け取ることができる。光学的機能部7は、フタ3の内面1に焦点があうが、これは底面Bの反対側に位置している。符号8は、蛍光光度計を示す。この蛍光光度計8もまた、眼様手段で提供されて、複数又は全ての腔2から放射される蛍光を検出することができる。赤外線供給源9及びファン10は、支持体1の反対側に位置する。

【0030】

(13)

特表2002-517219

図3及び図4は、第二の装置の横断面を示す。ここでは、赤外線の出発源9は、フタ3の反対側に配置されている。フタ3は、黒色で、熱伝導性の高い物質、例えばガラス又は金属でできている。より良好な吸収には、フタ3の外表面Aであって、内面Iの反対にあるものを黒色に塗る被覆する。第一のシール5は、自己封着性のロック結合をするようにして設計されている。第二のシール12は、腔2の開口部の近傍にあるが、これはゴム又はエラストマーからできている。これはフタ3の内面Iと、支持体1の上面Uとの間に提供されている。フタ3が閉まっていると、腔2に取られている分析溶液は、側壁LWと、これに向いた突出部4の曲面CSとの間に位置するギャップセグメントGSに取って代わる。

【0031】

図5においても、支持体1は、フタ3と相補的に構成されている。繰り返すが、これは熱伝導性の高い物質でできている。底面Bは、半透明の物質、例えばガラス窓11でできている。

【0032】

図6は、第一のシール5の横断面の概略の一部を示す。ここでは、突出部4の曲面CSに提供されている周囲の補強材13は、側壁LWに提供されている凹部14内に、閉じた状態において、しっかりとそして緩く塞いでいる。図7は、まだ緩くロックされた状態にある第一のシール5を示す。

【0033】

本装置には、以下の機能がある。

試料を調製するには、分析溶液を支持体1の腔2内へピペットで挿入する。このピペットによる挿入は、例えば自動ピペッティングの補助の元に行うことができる。分析溶液は好ましくは、PCRを行うのに必要な全ての試薬が存在しているいわゆるマスター混合物の形態を取る。具体的には、第一及び第二のプライマーが、分析溶液中に存在する。第三のプライマーは、突出部4の領域にある、フタ3の内面Iに結合している。検出するヌクレオチド配列は、この第三のプライマーに結合する。結合は、例えば予めフタ3を、検出するヌクレオチド配列が存在している試料溶液に浸すことにより生じる。

【0034】

(14)

特表2002-517219

試料を調製するには、フタ3を、突出部4が腔2と相補的に浸されるようにして支持体1へと配置するだけでよい。このプロセス中、結合するヌクレオチド配列を有する第三のプライマーは、分析溶液と接触する。フタ3は、例えば突出部4に提供される補強材13が、腔2の相補的凹部14内にロックするようにしてシールが形成されるようにして支持体1とともに閉じる。この状態においては、分析溶液は、ギャップGに取って代わる。

【0035】

次に、具体的には内面Iと底面Bとの間に形成されるギャップGを、PCRを行うのに必要な温度処理にかける。このとき、又はそれぞれの温度サイクルの間隔において、それぞれの腔2の内面Iと底面Bとの間に位置する領域を、光学的機能部7により励起し、次に、蛍光光度計8を使用して蛍光性を試験する。蛍光の変化は、興味あるヌクレオチド配列の存在又は非存在を意味する。

【0036】

温度サイクルは、IR照射源9又はファン10の活性化又は非活性化をして引き起こす。

【図面の簡単な説明】

【図1】 この図は、第一の装置の横断面の概略を示す。

【図2】 この図は、励起及び検出時にある図1の装置を示す。

【図3】 この図は、励起及び検出時にある第二の装置の横断面の概略を示す。

【図4】 この図は、図3の装置の横断面の概略を示す。

【図5】 この図は、第三の装置の横断面の一部を示す。

【図6】 この図は、シールの横断面の概略を示す。

【図7】 この図は、非ロック状態にある、図6の横断面を示す。

【符号の説明】

1・・・支持体、2・・・腔、3・・・フタ、4・・・突出部、5・・・第一のシール、6・・・電極、7・・・光学的機能部、8・・・蛍光光度計、9・・・IR照射源、10・・・ファン、11・・・ガラス窓、12・・・第二のシール、13・・・補強材、14・・・突出部、I・・・内面、B・・・底面、LW・・・側壁、G・・・ギャップ

(15)

特表2002-517219

ブ、EF・・・外面、U・・・上面、CS・・・曲面、GS・・・ギャップセグメント

。

【図1】

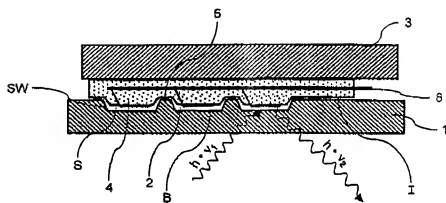


Fig. 1

【図2】

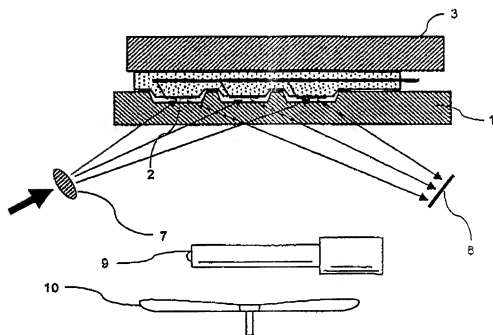


Fig. 2

(16)

特表2002-517219

【図3】

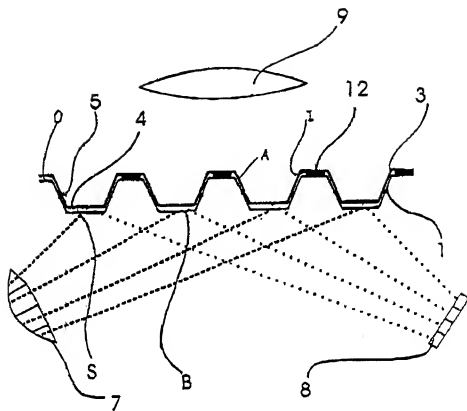


Fig. 3

(17)

特表2002-517219

【図4】

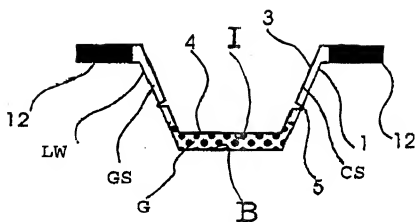


Fig. 3a

【図5】

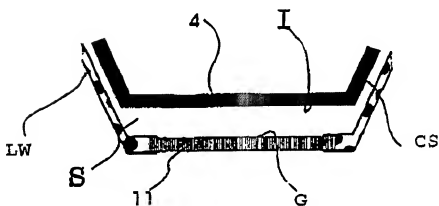


Fig. 4

(18)

特表2002-517219

【図6】

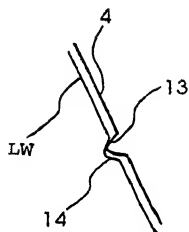


Fig. 5

【図7】

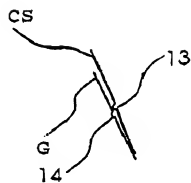


Fig. 6

(19)

特表2002-517219

【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成12年6月9日(2000. 6. 9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料を分析溶液と接触させ、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)によりヌクレオチド配列を検出するための試料調製方法であって、
a)分析溶液を、支持体(1)上に提供された少なくとも一の腔(2)に充填し、
b)当該腔(2)の形状に相補的なフタ(3)を、当該支持体(1)上に、当該分析溶液の少なくとも一部が当該腔(2)と当該フタ(3)との間に形成されるギャップ(G)によってかわり、第三のプライマーが、当該腔(2)へと伸びる当該フタ(3)の内面(I)に結合するようにして配置し、
c)当該ギャップ(G)を、当該腔(2)の開口部近傍に供給された少なくとも一のシール(5、12)で閉じ、
d)当該ヌクレオチド配列が、電場の影響したに当該第三のプライマーにシフトして、当該第三のプライマーに結合する
ことを特徴とする方法。

【請求項2】 前記の分析溶液に第一のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記の分析溶液に、第二のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】 前記の腔(2)へと伸びた前記のフタ(3)の内面(I)に、第三のプライマーが、その5'末端で結合することを特徴とする請求項1乃至3の何れか一項に記載の方法。

【請求項5】 試料中に存在するかもしれない前記のヌクレオチド配列が、第三のプライマーに結合することを特徴とする請求項4に記載の方法。

(20)

特表2002-517219

【請求項6】 増幅サイクルの完了後に、増幅された核酸が、前記の第三のプライマーに結合して前記の内面(1)に蓄積することを特徴とする請求項4又は5に記載の方法。

【請求項7】 蓄積が、電場を適用することによりなされることを特徴とする請求項6に記載の方法。

【請求項8】 前記の分析溶液及び／又はプライマーのうちの 하나가、その蛍光性について検査されることを特徴とする請求項1乃至7の何れか一項に記載の方法。

【請求項9】 検出する前記のヌクレオチド配列が、前記のプライマーのうちの 하나に結合すると、分析溶液中にある物質の蛍光性が変化することを特徴とする請求項1乃至8の何れか一項に記載の方法。

【請求項10】 検出する前記のヌクレオチド配列が前記のプライマーのうちの 하나に結合すると、蛍光反応が生じ、変化し、又は消滅するようにして二つの蛍光性基間の空間的關係が変化することを特徴とする請求項1乃至9の何れか一項に記載の方法。

【請求項11】 前記の分析溶液が、周期的に加熱及び冷却されることを特徴とする請求項1乃至10の何れか一項に記載の方法。

【請求項12】 好ましくは赤外線である光、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を前記の腔(2)に通すことにより、加熱を行うことを特徴とする請求項11に記載の方法。

【請求項13】 ガス若しくは流体を前記の腔の周りに通すか、又はペルチェ素子により冷却を行うことを特徴とする請求項11又は12に記載の方法。

【請求項14】 ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)により、試料中に存在するかもしれないヌクレオチド配列を検出するための装置であって、少なくとも一の腔(2)を有する支持体(1)、当該腔(2)に相補的であり、そして当該腔(2)によって取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔(2)及び当該フタ(3)の間のギャップ(2)に取って代わるようにして当該支持体(1)上に配置できるフタ(3)、当該腔(2)の開口部の近傍に配置され、当該ギャップ(2)を密封するためのシール(5、12)を有し、

(21)

特表2002-517219

当該腔は、当該開口部の方向へ円すい様に広がる、囲いの側壁(LW)を有し、当該ギャップ(G)は、1 mm以下の幅(W)を有し、電極(6)は、当該フタ(3)に組み込まれるようにしてモールドされていることを特徴とする装置。

【請求項15】 前記の分析溶液を周期的に加熱及び冷却する機能が提供されていることを特徴とする請求項14に記載の装置。

【請求項16】 分析溶液及び／又はプライマーのうちの一つの蛍光性を試験する機能が提供されることを特徴とする請求項14又は15に記載の装置。

【請求項17】 前記の支持体が、半透明の物質、好ましくはガラス又はプラスチックからなることを特徴とする請求項14乃至16の何れか一項に記載の装置。

【請求項18】 前記の腔が、平面部、好ましくは平底(B)を有するように設計されていることを特徴とする請求項14乃至17の何れか一項に記載の装置。

【請求項19】 別のシール(12)が、前記の支持体(1)上、及び／又は前記の腔(2)の間に配置される部分にある前記フタ(3)の内面(1)上、又は前記フタ(3)の内面(1)上に提供された突出部(4)上にあることを特徴とする請求項14乃至18の何れか一項に記載の装置。

【請求項20】 前記の支持体が、96個の腔(2)を有し、及び前記のフタ(3)が、当該腔(2)の形状と相補的な、96個の突出部(4)を有することを特徴とする請求項14乃至19の何れか一項に記載の装置。

【請求項21】 前記のフタ(3)が電導性の物質、好ましくはプラスチックからなることを特徴とする請求項14乃至20の何れか一項に記載の装置。

【請求項22】 前記のプラスチックが、ポリカーボネート、トリメチルオフェン、トリアミノベンゼン、及び／又はポリカルベンを含み、そして、前記のフタ(3)の内面(1)の少なくとも一部が、生体分子に結合する物質で提供されていることを特徴とする請求項21に記載の装置。

【請求項23】 前記の支持体(1)が、電極、好ましくは白金電極を有し、電場をかけて、それにより分析溶液中に存在するヌクレオチド配列が、前記の内面(1)にシフトし、そして場反転サイクルにより蓄積することが可能であること

(22)

特表2002-517219

を特徴とする請求項14乃至22の何れか一項に記載の装置。

【請求項24】 前記の分析溶液に第一のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項14乃至23の何れか一項に記載の装置。

【請求項25】 前記の分析溶液に第二のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項14乃至24の何れか一項に記載の装置。

【請求項26】 前記の腔(2)を向いた前記のフタ(3)の内面(1)に、第三のプライマーが、好ましくはその5'末端で結合することを特徴とする請求項14乃至25の何れか一項に記載の装置。

【請求項27】 底面(B)及び前記のフタ(3)の内面(1)の間に、蛍光を励起する手段が提供されていることを特徴とする請求項14乃至26の何れか一項に記載の装置。

【請求項28】 前記の励起手段に起因する輻射が、前記のフタ(3)の内面(1)に対してフォーカスすることが可能であることを特徴とする請求項27に記載の装置。

【請求項29】 蛍光を励起するための前記の手段(7)が、レーザーダイオードにより作られていることを特徴とする請求項27又は28に記載の装置。

【請求項30】 蛍光を検出する機能部(8)が提供されていることを特徴とする請求項14乃至29の何れか一項に記載の装置。

【請求項31】 観察される蛍光を評価する機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至30の何れか一項に記載の装置。

【請求項32】 前記の支持体(1)を、蛍光を励起する手段(7)、及び／又は検出機能部(8)に対してシフトするための機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至29の何れか一項に記載の装置。

【請求項33】 それぞれの底面(B)及び対応するフタ(3)の内面(1)の間の蛍光をそれぞれ別個に励起及び／又は検出するための網眼様手段が提供されていることを特徴とする請求項14乃至32の何れか一項に記載の装置。

【請求項34】 前記のフタ(3)の少なくとも一部、及び／又は前記支持体(1)が、これらに輻射された熱が効率良く吸収されるように黒色であることを特徴とする請求項14乃至33の何れか一項に記載の装置。

(23)

特表2002-517219

【請求項35】 周期的に前記の分析溶液を加熱及び冷却するための機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至34の何れか一項に記載の装置。

【請求項36】 好ましくは赤外線である光を作り出すための手段(9)、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を前記の腔(2)の周りに通すための手段が、加熱用に提供されていることを特徴とする請求項35に記載の装置。

【請求項37】 好ましくはガス又は流体を前記の腔(2)の周りに通して、又はペルチェ素子により冷却するための手段(10)が、提供されていることを特徴とする請求項35又は36に記載の装置。

【請求項38】 前記の支持体(1)が、ガラス製の底面(B)を有することを特徴とする請求項14乃至37の何れか一項に記載の装置。

【請求項39】 前記のシール(5)が、側壁(LW)を囲む凹部14と、当該凹部(14)を補い、且つ当該凹部(14)内にしっかりとほまりこむようにして、前記の突出部4に提供された周囲の補強材(13)とにより形成されることを特徴とする請求項14乃至37の何れか一項に記載の装置。

【請求項40】 前記の腔(2)内の圧力が上昇したとき、前記のシール(5)が、補強材(13)を前記凹部(14)に対して圧することにより自己密封することを特徴とする請求項40に記載の装置。

【請求項41】 a)少なくとも一の腔(2)を有する支持体(1)、
b)当該腔(2)に相補的なフタ(3)であって、当該腔(2)に取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔(2)及び当該フタ(3)の間に形成されるギャップ(G)内にと
ってかわるようにして支持体(1)へ配置することができ、電極(6)が当該フタ(3)へ組み込まれるようにモールドされたもの、及び
c)少なくとも一の第一のプライマーを含む分析溶液
を有する、請求項1に記載の方法を実施するためのキット。

【請求項42】 分析溶液中に第二のプライマーが存在することを特徴とする請求項41に記載のキット。

【請求項43】 第三のプライマーが、前記腔(2)に向いた前記のフタ(3)の内面(1)に、好ましくはその5'末端で結合することを特徴とする請求項41又

(24)

特表2002-517219

は42に記載のキット。

(25)

特表2002-517219

【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成12年7月21日(2000. 7. 21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料を分析溶液と接触させ、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)によりヌクレオチド配列を検出するための試料調製方法であって、
a)分析溶液を、支持体(1)上に提供された少なくとも一の腔(2)に充填し、
b)当該腔(2)の形状に相補的なフタ(3)を、当該支持体(1)上に、当該分析溶液の少なくとも一部が当該腔(2)と当該フタ(3)との間に形成されるギャップ(G)によってかわり、第三のプライマーが、当該腔(2)へと伸びる当該フタ(3)の内面(I)に結合するようにして配置し、
c)当該ギャップ(G)を、当該腔(2)の開口部近傍に供給された少なくとも一のシール(5、12)で閉じ、
d)当該ヌクレオチド配列が、電場の影響したに当該第三のプライマーにシフトして、当該第三のプライマーに結合することを特徴とする方法。

【請求項2】 前記の分析溶液に第一のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記の分析溶液に、第二のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】 前記の腔(2)へと伸びた前記のフタ(3)の内面(I)に、第三のプライマーが、その5'末端で結合することを特徴とする請求項1乃至3の何れか一項に記載の方法。

【請求項5】 試料中に存在するかもしれない前記のヌクレオチド配列が、第三のプライマーに結合することを特徴とする請求項4に記載の方法。

(26)

特表2002-517219

【請求項6】 増幅サイクルの完了後に、増幅された核酸が、前記の第三のプライマーに結合して前記の内面(1)に蓄積することを特徴とする請求項4又は5に記載の方法。

【請求項7】 蓄積が、電場を適用することによりなされることを特徴とする請求項6に記載の方法。

【請求項8】 前記の分析溶液及び／又はプライマーのうちの 하나가、その蛍光性について検査されることを特徴とする請求項1乃至7の何れか一項に記載の方法。

【請求項9】 検出する前記のヌクレオチド配列が、前記のプライマーのうちの 하나に結合すると、分析溶液中にある物質の蛍光性が変化することを特徴とする請求項1乃至8の何れか一項に記載の方法。

【請求項10】 検出する前記のヌクレオチド配列が前記のプライマーのうちの 하나に結合すると、蛍光反応が生じ、変化し、又は消滅するようにして二つの蛍光性基間の空間的關係が変化することを特徴とする請求項1乃至9の何れか一項に記載の方法。

【請求項11】 前記の分析溶液が、周期的に加熱及び冷却されることを特徴とする請求項1乃至10の何れか一項に記載の方法。

【請求項12】 好ましくは赤外線である光、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を前記の腔(2)に通すことにより、加熱を行うことを特徴とする請求項11に記載の方法。

【請求項13】 ガス若しくは流体を前記の腔の周りに通すか、又はペルチェ素子により冷却を行うことを特徴とする請求項11又は12に記載の方法。

【請求項14】 請求項1乃至13の何れか一項に記載の方法を実施するための装置であって、少なくとも一の腔(2)を有する支持体(1)、当該腔(2)に相補的であり、そして当該腔(2)によって取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔(2)及び当該フタ(3)の間のギャップ(2)に取って代わるようにして当該支持体(1)上に配置できるフタ(3)、当該腔(2)の開口部の近傍に配置され、当該ギャップ(2)を密封するためのシール(5、12)を有し、

当該腔は、当該開口部の方向へ円すい様に広がる、圓錐の側壁(LW)を有し、当

(27)

特表2002-517219

該ギャップ(G)は、1 mm以下の幅(W)を有し、電極(6)は、当該フタ(3)に組み込まれるようにしてモールドされていることを特徴とする装置。

【請求項15】 前記の分析溶液を周期的に加熱及び冷却する機能が提供されていることを特徴とする請求項14に記載の装置。

【請求項16】 分析溶液及び／又はプライマーのうちの一つの蛍光性を試験する機能が提供されることを特徴とする請求項14又は15に記載の装置。

【請求項17】 前記の支持体が、半透明の物質、好ましくはガラス又はプラスチックからなることを特徴とする請求項14乃至16の何れか一項に記載の装置。

【請求項18】 前記の腔が、平面部、好ましくは平底(B)を有するように設計されていることを特徴とする請求項14乃至17の何れか一項に記載の装置。

【請求項19】 別のシール(12)が、前記の支持体(1)上、及び／又は前記の腔(2)の間に配置される部分にある前記フタ(3)の内面(I)上、又は前記フタ(3)の内面(I)上に提供された突出部(4)上にあることを特徴とする請求項14乃至18の何れか一項に記載の装置。

【請求項20】 前記の支持体が、96個の腔(2)を有し、及び前記のフタ(3)が、当該腔(2)の形状と相補的な、96個の突出部(4)を有することを特徴とする請求項14乃至19の何れか一項に記載の装置。

【請求項21】 前記のフタ(3)が導電性の物質、好ましくはプラスチックからなることを特徴とする請求項14乃至20の何れか一項に記載の装置。

【請求項22】 前記のプラスチックが、ポリカーボネート、トリメチルチオフェン、トリアミノベンゼン、及び／又はポリカルベンを含み、そして、前記のフタ(3)の内面(I)の少なくとも一部が、生体分子に結合する物質で提供されていることを特徴とする請求項21に記載の装置。

【請求項23】 前記の支持体(1)が、電極、好ましくは白金電極を有し、電場をかけて、それにより分析溶液中に存在するヌクレオチド配列が、前記の内面(I)にシフトし、そして場反転サイクルにより蓄積することが可能であることを特徴とする請求項14乃至22の何れか一項に記載の装置。

(28)

特表2002-517219

【請求項24】 前記の分析溶液に第一のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項14乃至23の何れか一項に記載の装置。

【請求項25】 前記の分析溶液に第二のプライマーが添加されていることを特徴とする請求項14乃至24の何れか一項に記載の装置。

【請求項26】 前記の腔(2)を向いた前記のフタ(3)の内面(1)に、第三のプライマーが、その5' 末端で結合することを特徴とする請求項14乃至25の何れか一項に記載の装置。

【請求項27】 底面(B)及び前記のフタ(3)の内面(1)の間に、蛍光を励起する手段が提供されていることを特徴とする請求項14乃至26の何れか一項に記載の装置。

【請求項28】 前記の励起手段に起因する輻射が、前記のフタ(3)の内面(1)に対してフォーカスすることが可能であることを特徴とする請求項27に記載の装置。

【請求項29】 蛍光を励起するための前記の手段(7)が、レーザーダイオードにより作られていることを特徴とする請求項27又は28に記載の装置。

【請求項30】 蛍光を検出する機能部(8)が提供されていることを特徴とする請求項14乃至29の何れか一項に記載の装置。

【請求項31】 観察される蛍光を評価する機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至30の何れか一項に記載の装置。

【請求項32】 前記の支持体(1)を、蛍光を励起する手段(7)、及び／又は検出機能部(8)に対してシフトするための機能部が提供されていることを特徴とする請求項14乃至29の何れか一項に記載の装置。

【請求項33】 それぞれの底面(B)及び対応するフタ(3)の内面(1)の間の蛍光をそれぞれ別個に励起及び／又は検出するための網眼様手段が提供されていることを特徴とする請求項14乃至32の何れか一項に記載の装置。

【請求項34】 前記のフタ(3)の少なくとも一部、及び／又は前記支持体(1)が、これらに輻射された熱が効率良く吸収されるように黒色であることを特徴とする請求項14乃至33の何れか一項に記載の装置。

【請求項35】 周期的に前記の分析溶液を加熱及び冷却するための機能部

(29)

特表2002-517219

が提供されていることを特徴とする請求項1 4乃至3 4の何れか一項に記載の装置。

【請求項3 6】 好ましくは赤外線である光を作り出すための手段(9)、抵抗器加熱、又はガス若しくは流体を前記の腔(2)の周りに通すための手段が、加熱用に提供されていることを特徴とする請求項3 5に記載の装置。

【請求項3 7】 好ましくはガス又は流体を前記の腔(2)の周りに通して、又はペルチェ素子により冷却するための手段(10)が、提供されていることを特徴とする請求項3 5又は3 6に記載の装置。

【請求項3 8】 前記の支持体(1)が、ガラス製の底面(B)を有することを特徴とする請求項1 4乃至3 7の何れか一項に記載の装置。

【請求項3 9】 前記のシール(5)が、側壁(LW)を囲む凹部14と、当該凹部(14)を補い、且つ当該凹部(14)内にしっかりとほまりこむようにして、前記の突出部4に提供された周囲の補強材(13)とにより形成されることを特徴とする請求項1 4乃至3 7の何れか一項に記載の装置。

【請求項4 0】 前記の腔(2)内の圧力が上昇したとき、前記のシール(5)が、補強材(13)を前記凹部(14)に対して圧することにより自己密封することを特徴とする請求項4 0に記載の装置。

【請求項4 1】 a)少なくとも一の腔(2)を有する支持体(1)、
b)当該腔(2)に相補的なフタ(3)であって、当該腔(2)に取られた分析溶液の少なくとも一部が、当該腔(2)及び当該フタ(3)の間に形成されるギャップ(c)内にとってかわるようにして支持体(1)へ配置することができ、電極(6)が当該フタ(3)へ組み込まれるようにモールドされたもの、及び
c)少なくとも一の第一のプライマーを含む分析溶液
を有する、請求項1に記載の方法を実施するためのキット。

【請求項4 2】 分析溶液中に第二のプライマーが存在することを特徴とする請求項4 1に記載のキット。

【請求項4 3】 第三のプライマーが、前記腔(2)に向いた前記のフタ(3)の内面(1)に、好ましくはその5' 末端で結合することを特徴とする請求項4 1又は4 2に記載のキット。

(30)

特表2002-517219

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 B01L3/00 B01L7/00 //C12Q1/68		International Application No. PC1/DE 99/01589
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 B01L B10L C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data bases consulted during the international search phase of data base and, where practicable, search terms used		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages X WO 96 02836 A (PHARMACIA BIOTECH AB :MOTTE RENG (SE)) 1 February 1996 (1996-02-01) & US 5 882 895 A (LA MOTTE BENGT) 16 March 1999 (1999-03-16) column 1, line 58 -column 2, line 18 column 2, line 45 -column 2, line 57 column 2, line 61 -column 4, line 28 column 4, line 43 -column 4, line 58 column 5, line 16 -column 5, line 29 figures 1-12 -/-	Relevance to claim No. 1-3, 11, 41, 42 4, 5
Further documents are listed in the continuation of page C.		
Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another document or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claim(s) Date of the actual completion of the international search 29 October 1999		
"I" inter document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to demonstrate the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken into account "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, each contribution being decisive to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family Date of mailing of the international search report 05/11/1999		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5010, Patentstrasse 2 D-5 050 09 Bonn Tel. (+49-228) 940-3240, Tx. 31 851 400 H, Fax (+49-228) 940-3016		Authorized officer Koch, A

Form PCT/ISAO/10 (second sheet) (JAN 1998)

(31)

特表2002-517219

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Invent: First Application No
PC1/DE 99/01569

C.(Continuations) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indications where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	GB 2 333 250 A (SECR DEFENCE) 21 July 1999 (1999-07-21) page 3, line 10 -page 3, line 28 page 4, line 12 -page 4, line 28 page 5, line 1 -page 5, line 6 page 6, line 16 -page 6, line 25 page 8, line 1 -page 8, line 8 page 8, line 30 -page 9, line 19 page 10, line 25 -page 11, line 6 page 12, line 8 -page 13, line 5 page 13, line 19 -page 14, line 10 claim 5; figures 1,4	1-3, 8-18, 20, 21, 24, 25, 27, 30, 31, 35-37, 41, 42
A	FR 2 672 301 A (EISET; LARZUL DANIEL (FR)) 7 August 1992 (1992-08-07) abstract page 2, line 12 -page 2, line 15 page 4, line 7 -page 4, line 9 page 11, line 25 -page 11, line 34 page 12, line 8 -page 12, line 27 page 13, line 1 -page 13, line 7 page 19, line 14 -page 19, line 19 page 20, line 11 -page 21, line 5 page 22, line 11 -page 22, line 15 figures 1-4	1-3, 11, 15
P, A	WO 98 25701 A (UNIV CALIFORNIA) 18 June 1998 (1998-06-18) page 9, line 20 -page 9, line 23 page 10, line 26 -page 10, line 29 page 12, paragraph 4 -page 13, line 20 page 15, line 31 -page 15, line 34 page 20, paragraph 4 page 21, paragraph 4 -page 22, paragraph 3 page 23, paragraph 5 -page 24, paragraph 1 figures 3, 4, 9, 10	4, 7, 16-18
A	US 5 585 242 A (BOUMA STANLEY R ET AL) 17 December 1996 (1996-12-17) page 3, line 26 -page 4, line 29 figures 1,2	1-4, 8-11, 14, 15, 17, 41
A	US 5 556 773 A (YOUNO JOSEPH) 17 September 1996 (1996-09-17) column 3, line 58 -column 5, line 4 figure 1	1-5, 14, 26, 41-43
6 A	US 5 484 734 A (KIMURA SHIRO) 16 January 1996 (1996-01-16)	19
1	-/-	

Form PC1/DE(2) (continuation of second sheet) (July 1996)

(32)

特表2002-517219

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		Inventor's Application No. PCT/DE 99/01589
Category *	Citation of document, with indicator, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 604 130 A (WARNER BRIAN D ET AL) 18 February 1997 (1997-02-18) abstract; figures 1-3	1,14,41

Form PCT/ISA(2) (Continuation of a received sheet) (July 1992)

(33)

特表2002-517219

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

continuation on patent family members

International Application No.

PCT/JP 99/01589

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9602836 A	01-02-1996	EP 0772775 A JP 10503366 T US 5882595 A	14-05-1997 31-03-1998 16-03-1999
GB 2333250 A	21-07-1999	NONE	
FR 2672301 A	07-08-1992	NONE	
WO 9825701 A	18-06-1998	AU 5799198 A EP 0948408 A	03-07-1998 13-10-1999
US 5585242 A	17-12-1995	AU 4047893 A CA 2133643 A EP 0717779 A JP 7505297 T WO 9320240 A	08-11-1993 14-10-1993 26-06-1996 15-06-1995 14-10-1993
US 5556773 A	17-09-1995	NONE	
US 5484734 A	16-01-1995	JP 2053764 C JP 6254385 A JP 7079963 B	23-05-1996 13-09-1994 30-08-1995
US 5604130 A	18-02-1997	AU 5882595 A EP 0828560 A JP 11507508 T WO 9639481 A	24-12-1996 18-03-1998 06-07-1999 12-12-1996

From PCT/JP99/01589 (Date of family search: 04/11/1999)

(34)

特表2002-517219

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

識別記号

F I

ターマコード (参考)